

增强间充质干细胞的趋化与疾病治疗

李彤, 李启豪, 苏晓均, 黄之佩, 周龙源, 陈钦昌

摘要

间充质干细胞 (Mesenchymal Stem Cells, MSCs) 是一群具有自我更新与多向分化潜能的成体干细胞, 具有免疫调节、促进组织再生、旁分泌和抗炎等作用, 并且倾向于趋化到炎症或损伤部位, 具有广大的治疗前景。但是体外培养的 MSCs 在体内趋化到损伤组织的效率低下, 为了达到更好的治疗效果, 多项研究认为增强其趋化是十分有效的策略, 本文主要从 MSCs 分离培养的状况, 细胞修饰、基因修饰和靶器官修饰等方面讲述了增强 MSCs 趋化的方法, 为优化 MSCs 的疾病治疗方案提供参考。

关键词: MSC; 趋化因子; 趋化受体; 基因修饰; 细胞修饰

0. 引言

间充质干细胞 (MSCs), 是一群具有自我更新与多向分化潜能的成体干细胞, 易于分离和体外培养。MSCs 的来源有骨髓、胎盘、脐带血、脂肪组织、肌肉组织、角膜基质和牙髓等等^[1]。2006 年, 国际干细胞协会提出了间充质干细胞至少要具备的三个特点: 1. 贴壁生长; 2. 细胞表面标志物 CD73、CD90、和 CD105 阳性, 而 CD45、CD34、CD14、CD11b、CD79α 和 HLA-DR 阴性; 3. 能够体外分化为骨、脂肪和软骨^[2]。MSCs 的多能性和低免疫原性, 使其成为细胞治疗的一颗新星。1995 年首次报道 MSCs 应用于临床实验, 现在 MSCs 已被广泛地用于临床实验研究, 部分也已用于临床治疗, 如移植物抗宿主病 (GVHD)^{[3][4]}、软骨和骨损伤^[5]、充血性心力衰竭^[6]、急性心肌梗死^[7]、II 型糖尿病^[8]等, 而且在皮肤^[9]、肌肉^[10]和肺的损伤修复中也有良好进展。

MSCs 应用于临床实验时, 用药方式只能以注射给药, 因疾病的发生部位不同, 其注射方式也有所不同——主要有系统注射和局部注射^[11]。系统注射又分为经静脉注射和经动脉注射, 其中, 经静脉注射损伤小, 风险低, 故使用率最高。但是, 实验证明, 经静脉注射的 MSCs 大部分都聚集在肺部, 有效趋化到损伤部位的 MSC 数量较少, 可能的原因为体

外培养的 MSCs 体积较大，经血液循环至肺时易滞留^[12]。经动脉注射会相对提高 MSCs 向损伤组织的趋化效率，但是体积较大的 MSCs 易在微动脉聚集。在猪急性心肌缺血模型中使用 MSCs 经冠状动脉注射治疗，发现了微血栓的产生，在其他治疗休克的研究中也发现了微血栓的形成，提示经动脉注射 MSCs 存在较高的治疗风险^[13]。局部注射可使 MSCs 立即达到损伤部位，比如骨损伤时通过手术介入注射 MSCs，但是注射部位 MSCs 浓度较高，导致局部氧气和营养相对不足，进入受损组织的 MSCs 生存率大大降低^[14]。与局部注射相比，系统注射的 MSCs 可以到达全身，可以治疗多种全身性疾病，但是缺点也非常明显——趋化效率低。实验证明，系统注射 MSCs，只有非常少的细胞是真正到达受损部位发挥治疗的作用。提高 MSCs 的趋化是提高疗效的一个重要突破点。

1. 背景

系统注射后，MSCs 会向损伤组织归巢，目前为止，归巢的机制还没有完全研究清楚，现在研究者对 MSCs 归巢的见解，是从研究白细胞迁移到发炎的组织，造血干细胞的迁移和癌细胞转移中得来的^{[15][16]}。归巢是依赖于趋化受体及其对应的结合配体，MSCs 到达组织周围的血管时，细胞需要接触到内皮细胞并从内皮细胞间的缝隙穿过达到靶组织^[17]。多项研究证明，趋化因子和趋化受体在 MSCs 归巢和趋化过程中扮演至关重要的角色^[18]。

趋化因子，是炎症状态或损伤部位产生的，长度在 7-13kDa 的带电短肽。目前已发现四个趋化因子家族，分别是含有相邻半胱氨酸残基的 CCL 家族，含有被一个氨基酸隔开的半胱氨酸的 CXCL 家族，只含有两个半胱氨酸的 CL 家族和含有被三个氨基酸隔开的半胱氨酸的 CX3CL 家族。趋化因子结合 G 蛋白偶联受体，简称趋化因子受体，是通过异源三聚体 G 蛋白传递信号的七次跨膜受体^[19]。趋化因子受体根据与其特异性结合的趋化因子的种类而分类，如 CCR 和趋化因子 CC 结合，CXCR 和趋化因子 CXC 结合。趋化因子及其受体的发现是因为它们介导趋化的作用，指导趋化和对化学刺激应答，这也是 MSCs 趋化和调节炎症反应的原理^[20]。趋化因子浓度和趋化受体表达量是影响 MSCs 趋化的重要因素，目前已发现了很多的与 MSCs 趋化至炎症局部相关的趋化因子-趋化因子受体轴，包括

CXCL12-CXCR4, CCL27-CCR10, CCL21-CCR7 等等。其中研究最多的是 CXCL12-CXCR4, CXCL12 也称作基质细胞衍生因子 (SDF-1)^[21]。在小鼠烧伤模型中, 利用基因敲入和基因敲除实验来调节 SDF-1 的浓度或者 CXCR4 的表达量, 实验发现, SDF-1 的高表达可以增强损伤部位的修复而且可以提高内皮祖细胞向损伤部位的趋化; 下调 SDF-1 的表达, 则会减少 MSCs 向损伤部位的趋化^[22]。

影响趋化因子及其受体轴的因素也会影响 MSCs 趋化, 在 MSCs 的分离和培养过程中, 新鲜分离的 MSCs 会有更好的趋化效果, 但是实际分离得到的细胞数量十分稀少^[23]。因此, 扩增骨髓间充质干细胞, 同时保留其表面受体的表达的方法正在研究。不同的培养条件会影响 MSCs 表面趋化受体的表达量, 当离开了体内的微环境, MSCs 在体外培养过程中是很容易受影响的, 培养过程中的氧气浓度、培养的时间等都会影响 MSCs 的趋化。

2. 提高 MSCs 的趋化效率

增强 MSCs 的趋化, 最直接的想法就是增大 MSCs 的注射量, 在一定范围内, 趋化到受损部位的 MSCs 数量是随着注射量的提高而增多的^[24]。但是注射的 MSCs 量越大, 引起微血栓的可能性就越大, 所以注射量并不与治疗效果呈正相关, 其原因可能是阻塞在肺部的 MSCs 增多^[25]。所以, 需要探索其他更加有效增强 MSCs 趋化的方法。

2.1 改进培养条件

由于分离得到的原代 MSCs 数量过少而无法直接用于临床治疗, 所以必须对其进行体外培养增殖但是培养时间过长, 传代数过多, 会使 MSCs 老化而降低趋化效率^[26]。Vacanti 等人研究了传代数对 MSCs 的趋化作用的影响, 结果显示传代大于 15 代的 MSCs 出现肌动蛋白聚集, 细胞老化, 粘附能力减弱的现象; 而且, 不同的培养时间还会改变趋化因子受体的表达量, 例如长时间培养的鼠 MSCs (>10 代) 的 CCR1, CCR2 和 CXCR4 表达量显著低于短时间培养的 (<4 代)^[27]。

其他实验表明, 低氧可增加 CXCR4 的表达, 而 CXCR4 的高表达可以增强 MSCs 的趋化, 这种现象不仅存在于短期低氧暴露, 长期持续的低氧环境培养也有相同的作用^[28]。其

机制可能是低氧环境可以使 MSCs 的 HIF-1 表达上调, 增加 CXCR4, CXCR7 和 CX3CR1 的表达, 从而提高趋化能力^[29]; 也可能是低氧环境一定程度上模拟了体内的微环境, 使 MSCs 提前适应, 提高注射到体内之后的生存率^[30]。

另外, 培养密度也会影响 MSCs 的趋化, 研究表明较低的培养密度可以增强 MSCs 的趋化, 较高密度培养的 MSCs 会分泌基质金属蛋白酶抑制剂-3 (TIMP-3), 可以抑制金属蛋白酶(MMP), 而 MSC 的运输跨膜, 需要 MMP 来溶解基质膜, 所以高密度培养会降低 MSCs 的趋化作用^[31]。

MSCs 的趋化是一个多因素调节共同完成的过程, 包括选择素、生长因子、细胞因子、趋化因子、生物活性脂类和粘附分子等等^[32]。实验证明, 用细胞因子如 Flt-3 配体、SCF、IL-6、HGF 和 IL-3, 或者生长因子如 RANTES, SDF-1 α , HGF, TNF- α , PDGF-AB, 或 TGF-B1 预处理人脂肪来源 MSCs, 可以增多 CXCR4 表达, 从而增强趋化作用^[33]。同样, 实验研究发现, 用一些特定的化学复合物也可以增强 MSCs 的趋化, 用丙戊酸钠和锂处理 MSCs, 移植至小鼠中风模型, 可以阻断组蛋白去乙酰化酶 (HDAC), 提高 CXCR4 的表达, 还可以阻断核糖合成激酶-3 β , 提高 MMP-9 的水平; 用 DFO(去铁草酰胺)二氧化钴, 胍苯哒嗪处理 MSC, 可以阻断脯氨酰羟化酶, 稳定 HIF-1 α , 提升趋化相关因子如 CXCR4, CCR7, MMP-2 和 MMP-9 的表达, 从而增强 MSCs 的趋化能力^[34]。

2.2 基因修饰

改变培养方式对 MSCs 趋化能力的提高, 作用是有限的, 如果能够从源头改变 MSCs 表达趋化受体的基因, 可以大大增多趋化受体的表达量, 基因修饰可以有效增多 MSCs 趋化受体的表达量^[35]。基因修饰的方法主要有病毒载体转染及非病毒转染, 从而改变趋化因子-趋化因子受体轴中分子的表达量, 尤其是 SDF1-CXCR4 轴^[36]。其中, 病毒转导是在宿主细胞中得到大量稳定的分子表达的最有效的办法^[37]。在一个 NOD/SCID 鼠模型中, 给小鼠心内注射修饰后的 MSCs, 发现 CXCR4 的表达增多, 增强了 MSCs 向骨髓的归巢。然而这种技术有一定局限性, 最主要的是插入性癌变的可能性、免疫反应副作用以及高昂的费用^[38]。

因此，非病毒转染成为了研究 MSCs 趋化能力的重要方法。研究表明，通过 mRNA 核转染，可实现 CXCR4 的高达 90% 的高表达；但另一方面，细胞存活率只有 62%，并且 MSCs 的趋化无显著增强^[39]。另一组实验探索了用超声和微泡植入一小段短干扰 RNA 来提高成活率的可行性，结果发现目标分子表达量显著降低，并且处理后的 MSCs 生存率大大降低^[40]。非病毒转染方法还需改进，化学处理的研究也在开展，如利用脂质介质进行基因修饰。目前来看，病毒转染的效率能达到 90%。相对于病毒转导，非病毒转导则更简单且更经济^[41]，但是转染效率显著低下，大约只有 35% 的 MSCs 能表达目标蛋白。由此可见，基因修饰的方法仍需改进，提高转染效率和成活率，降低癌变风险^[42]。

2.3 细胞表面修饰

基因修饰对 MSCs 本身伤害较大，而细胞表面修饰不会对细胞的生存率、增殖、粘附和分化造成影响。多项实验研究通过增加粘附分子的表达来改善细胞的粘附和滚动。

糖修饰是细胞表面修饰的方法之一。MSCs 表面存在 E 选择素的糖型，通过糖修饰可以增加 E 选择素的表达从而使其归巢能力增强^[43]。2008 年 Sackstein 等报道了体外将 MSCs 表面的 CD44 分子转化成了造血干细胞 E 选择素/L 选择素配体 (HCELL)^[44]。E 选择素在 MSCs 归巢粘附过程中起非常重要的作用，但是 MSCs 本身不能表达 HCELL，但是会表达 CD44 糖型，在特性的酶系用岩藻糖转移酶处理 MSCs，表面的 CD44 糖型就会转变成 E 选择素的配体。并且该实验操作不会对 MSC 的存活率和表型产生影响，体内归巢试验在 NOD/SCID 小鼠尾静脉注射 HCELL+ MSC，即使是在缺乏 CXCR4 的情况下，修饰过的 MSCs 也比未修饰的 MSCs 归巢的数量多^[44]。Cheng H 等报道了在 30 分钟左右快速将 K 肽和 E 选择素结合肽结合到 MSCs 表面的方法，同样，操作后仍保持生存、增殖和分化。在一项内皮炎症模型中，糖修饰后的 MSCs 在血流的流动中显示了更好的粘附效果^[45]。另外，用蛋白打印 (Protein painting) 的方法将细胞内粘附分子 1 (ICAM-1) 抗体紧密包被于 MSCs 表面而不改变 MSC 的生存、增殖和分化，可以使 MSCs 与内皮细胞粘附更紧密^[46]。抗 VCAM-1 等的抗体包被的 MSCs 也可以促进 MSCs 粘附于内皮细胞^[46]。

除了改变粘附分子，最近也有研究表明聚乙二醇脂（lipid-PEG）可以将重组的 CXCR4 结合到 MSCs 表面，经过一次性的混合过程，MSCs 表面可以短暂表达大量的 CXCR4，增强趋化能力^[47]。

2.4 靶器官修饰

最后，MSCs 的迁移和归巢效率也和靶组织相关。正常未损伤的组织就会产生 SDF-1，但损伤的组织的 SDF-1 α 表达增多，招募更多的 MSCs 到达损伤部位^[48]。即使如此，组织自然产生的 SDF-1 α 仍然很少，远达不到最佳招募浓度，所以可以用提到损伤部位 SDF-1 α 的方法增强 MSCs 的趋化^{[49][50]}。

直接注射趋化因子是最简单易行的一种方法，2007 年，Sasaki 等发现在小鼠缺血心肌部位直接注射 SDF-1 α 可以招募更多的骨髓来源的细胞，促进血管新生，减少梗塞的形成。但是由于 SDF-1 α 半衰期短，损伤组织的蛋白水解酶会降低直接注射 SDF-1 α 的疗效，可用抗蛋白水解酶的 SDF-1 提高疗效^[51]。

注射编码趋化因子的基因到损伤组织，使组织细胞持续表达趋化因子，也是一种可行的办法。超声靶向破坏微泡（UTMD）是一种非侵袭性的基因转染方法，用脂质微泡包裹目的基因，到达体内后，在超声波的作用下释放质粒^[52]。注射表达趋化因子的细胞也是组织修饰的方法之一，Zhao 等发现，在缺血心肌局部注射能高表达 SDF-1 α 的 MSCs 可以招募更多的骨髓来源的祖细胞，加快心肌重构^[53]。

若要达到持续稳定地释放 SDF-1 趋化因子，还可使用生物骨架，如聚己酸内酯骨架，明胶水凝胶^[54]，乳酸氧化乙烯酯骨架等等。Shen et al. (2010) 研究出结合 SDF-1 α 的具有生物活性的编织丝胶原海绵骨架（bioactive knitted silk-collagen sponge scaffold），可以选择性招募表达 CXCR4 的成纤维细胞，增强肌腱再生和减少炎症细胞聚集^[55]。

另外，在 MSCs 归巢的早期研究中，已经证实了损伤部位放射治疗可以增强 MSCs 的归巢。在化疗放疗治疗之后，骨髓中的 SDF-1 水平升高，招募更多的 HSCs 和 MSCs 进入骨

髓^[56]。也有报道使用超声、磁场或电场处理靶组织，但是这些技术没有显示出很强的实用性，而且处理后表达的归巢分子表达量也不尽人意。

3. 结论和展望

MSCs 应用于疾病治疗具有良好的前景，目前已证实其具有免疫调节、损伤修复、旁分泌和抗炎等作用。但是在应用过程中，系统注射的 MSCs 在体内分布不均，实际趋化到受损组织的数量很少，加之 MSCs 的注射量并不是越多越好，要增强 MSC 的治疗疾病的效果，目前可靠的方法是增强 MSCs 的趋化能力。本文从 MSCs 的分离培养阶段，到基因修饰、细胞修饰和靶器官修饰几个方面全面介绍了增强 MSCs 趋化能力的方法。

除此之外，与 MSC 趋化相关的各方面机制也亟待研究并加以考虑：归巢和趋化的机制仍然不够完善；鉴于缺少 MSC 的特异性标志物，还缺乏精确有效的体内 MSCs 定位方法；MSC 在临床应用中的副作用甚至是危害等安全性问题同样不可忽视等等。

总之，研究 MSC 的趋化是为了更好地治疗疾病，但是在增强其趋化能力的同时也应考虑 MSC 或靶器官修饰之后，是否会造成未知的影响。

参考文献：

- [1] Van den Broek LJ, Kroeze KL, Waaijman T, et al. Differential response of human adipose tissue- derived mesenchymal stem cells, dermal fibro- blasts, and keratinocytes to burn wound exudates: potential role of skin-specific chemokine CCL27 [J]. Tissue Eng Part A, 2014, (20):197.
- [2] Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells [J]. Cytotherapy, 2006, (8): 315.
- [3] Petrie Aronin CE, Tuan RS. Therapeutic potential of the immunomodulatory activities of adult mesenchymal stem cells [J]. Birth Defects Res C Embryo Today, 2010, (90): 67–74.
- [4] Herrmann R, Sturm M, Shaw K, Purtill D, Cooney J, Wright M, et al. Mesenchymal stromal cell therapy for steroid-refractory acute and chronic graft versus host disease: a phase 1 study [J]. Int J Hematol, 2012, (95): 182–8.
- [5] G. N. Jones, D. Moschidou, K. Lay et al. Pregulating CXCR4 in human fetal mesenchymal stem cells enhances engraftment and bone mechanics in a mouse model of osteogenesis imperfect [J]. Stem Cells Translational Medicine, 2012, (1): 70–78.

- [6] Kim SW, Zhang HZ, Kim CE, Kim JM, Kim MH. Amniotic mesenchymal stem cells with robust chemotactic properties are effective in the treatment of a myocardial infarction model [J]. *Int J Cardiol*, 2013, (168): 1062–9.
- [7] Kim YS, Ahn Y, Kwon JS, Cho YK, Jeong MH, Cho JG, et al. Priming of mesenchymal stem cells with oxytocin enhances the cardiac repair in ischemia/reperfusion injury [J]. *Cells Tissues Organs*, 2012, (195): 428–42.
- [8] Badillo AT, Chung S, Zhang L, Zoltick P, and Liechty KW. Lentiviral gene transfer of SDF-1 α to wounds improves diabetic wound healing [J]. *J Surg Res*, 2007, (143): 35.
- [9] Inokuma D, Abe R, Fujita Y, et al. CTACK/CCL27 accelerates skin regeneration via accumulation of bone marrow-derived keratinocytes [J]. *Stem Cells*, 2006, (24): 2810.
- [10] Noth U, Rackwitz L, Steinert AF et al. Cell delivery therapeutics for musculoskeletal regeneration [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2010, (62): 765– 783.
- [11] Gao J, Dennis JE, Muzic RF, Lundberg M, Caplan AI. The dynamic in vivo distribution of bone marrow-derived mesenchymal stem cells after infusion. *Cells Tissues Organs*, 2001, (169): 12-20
- [12] R. H. Lee, A. A. Pulin, M. J. Seo et al. Intravenous hMSCs improve myocardial infarction in mice because cells embolized in lung are activated to secrete the anti-inflammatory protein TSG-6 [J]. *Cell Stem Cell*, 2009, (5): 54–63.
- [13] Y. Guo, L. Su, J. Wu et al. Assessment of the green fluorescence protein labeling method for tracking implanted mesenchymal stem cells [J]. *Cytotechnology*, 2012, (64): 391–401.
- [14] J. A. Wood, D. J. Chung, and S. A. Park. Periocular and intra- articular injection of canine adipose-derived mesenchymal stem cells: an in vivo imaging and migration study [J]. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 2012, (28): 307– 317.
- [15] J. Stagg and J. Galipeau. Mechanisms of immune modulation by mesenchymal stromal cells and clinical translation [J]. *Current Molecular Medicine*, 2013, (13): 856–867.
- [16] Bear JE and Haugh JM. Directed migration of mesenchymal cells: where signaling and the cytoskeleton meet [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2014, (30): 74.
- [17] Y. Wu and R. C. H. Zhao. The role of chemokines in mesenchymal stem cell homing to myocardium [J]. *Stem Cell Reviews and Reports*, 2012, (8): 243–250.
- [18] H. Smith, C. Whittall, B. Weksler, and J. Middleton. Chemokines stimulate bidirectional migration of human mesenchymal stem cells across bone marrow endothelial cells [J]. *Stem Cells and Development*, 2012, (21): 476–486.
- [19] Alexeev V, Donahue A, Uitto J, Igoucheva O. Analysis of chemotactic molecules in bone marrow-derived mesenchymal stem cells and the skin: Ccl27-Ccr10 axis as a basis for targeting to cutaneous tissues [J]. *Cytotherapy*, 2013, (15): 171.
- [20] Xu X, Zhu F, Zhang M, et al. Stromal cell-derived factor-1 enhances wound healing through recruiting bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the wound area and promoting neo- vascularization [J]. *Cells Tissues Organs*, 2013, (197): 103.

- [21] Martins-Green M, Petreaca M, and Wang L. Chemokines and their receptors are key players in the orchestra that regulates wound healing [J]. *Adv Wound Care*, 2013, (2):327.
- [22] Marquez-Curtis LA and Janowska-Wieczorek A. Enhancing the migration ability of mesenchymal stromal cells by targeting the SDF-1/CXCR4 axis [J]. *Biomed Res Int*, 2013, (2013): 561098.
- [23] Ringe J, Strassburg S, Neumann K, et al. Towards in situ tissue repair: human mesenchymal stem cells express chemokine receptors CXCR1, CXCR2 and CCR2, and migrate upon stimulation with CXCL8 but not CCL2 [J]. *Cell Biochem*, 2007, (101): 135.
- [24] Rabbany SY, Pastore J, Yamamoto M, et al. Continuous delivery of stromal cell-derived factor- 1 from alginate scaffolds accelerates wound healing [J]. *Cell Transplant*, 2010, (19): 399.
- [25] Fox JM, Chamberlain G, Ashton BA, and Middleton J. Recent advances into the understanding of mesenchymal stem cell trafficking [J]. *Br J Haematol*, 2007, (137): 491.
- [26] A. C. M. Assis, J. L. Carvalho, B. A. Jacoby et al. Time- dependent migration of systemically delivered bone marrow mesenchymal stem cells to the infarcted heart [J]. *Cell Transplantation*, 2010, (19): 219–230.
- [27] Vacanti V, Kong E, Suzuki G, Sato K, Canty JM, Lee T. Phenotypic changes of adult porcine mesenchymal stem cells induced by prolonged passaging in culture [J]. *Cell Physiol*, 2005, (205): 194-201
- [28] Annabi B, Lee YT, Turcotte S, Naud E, Desrosiers RR, Champagne M, Eliopoulos N, Galipeau J, Béliveau R. Hypoxia promotes murine bone-marrow-derived stromal cell migration and tube formation [J]. *Stem Cells*, 2003, (21): 337-347
- [29] Vertelov G, Kharazi L, Muralidhar MG, Sanati G, Tankovich T, Kharazi A. High targeted migration of human mesenchymal stem cells grown in hypoxia is associated with enhanced activation of RhoA. *Stem Cell Res Ther* 2013; 4: 5
- [30] Yu X, Lu C, Liu H, Rao S, Cai J, Liu S, Kriegel AJ, Greene AS, Liang M, Ding X. Hypoxic preconditioning with cobalt of bone marrow mesenchymal stem cells improves cell migration and enhances therapy for treatment of ischemic acute kidney injury [J]. *PLoS One*, 2013, (8): e62703
- [31] Roobrouck VD, Vanuytsel K, Verfaillie CM. Concise review: Culture mediated changes in fate and/or potency of stem cells [J]. *Stem Cells*, 2011, (29): 583–589.
- [32] M. Honczarenko, Y. Le, M. Swierkowski, I. Ghiran, A. M. Glodek, and L. E. Silberstein. Human bone marrow stromal cells express a distinct set of biologically functional chemokine receptors [J]. *Stem Cells*, 2006, (24): 1030–1041.
- [33] J.Y. Hahn, H.J. Cho, H.J. Kang et al. Pre-treatment of mesenchymal stem cells with a combination of growth factors enhances gap junction formation, cytoprotective effect on cardiomyocytes, and therapeutic efficacy for myocardial infarction [J]. *Journal of the American College of Cardiology*, 2008, (51): 933–943.

- [34] Li-Kai Tsai, Zhifei Wang et al. Mesenchymal Stem Cells Primed With Valproate and Lithium Robustly Migrate to Infarcted Regions and Facilitate Recovery in a Stroke Model [J]. *Stroke*, 2011, (10): 2932–2939.
- [35] Barrilleaux B, Phinney DG, Prockop DJ, O'Connor KC. Review: ex vivo engineering of living tissues with adult stem cells [J]. *Tissue Eng*, 2006, (12): 3007-3019.
- [36] Bentzon JF, Stenderup K, Hansen FD, Schroder HD, Abdallah BM, Jensen TG, Kassem M. Tissue distribution and engraftment of human mesenchymal stem cells immortalized by human telomerase reverse transcriptase gene [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, (330): 633-640.
- [37] Bessis N, GarciaCozar FJ, Boissier MC. Immune responses to gene therapy vectors: influence on vector function and effector mechanisms [J]. *Gene Therapy*, 2004, (11): S10-S17.
- [38] Bobis-Wozowicz S, Miekus K, Wybieralska E, Jarocha D, Zawisz A, Madeja Z, Majka M. Genetically modified adipose tissue-derived mesenchymal stem cells overexpressing CXCR4 display increased motility, invasiveness, and homing to bone marrow of NOD/SCID mice [J]. *Exp Hematol*, 2011, (39): 686-696.e4
- [39] C. Madeira, R. D. Mendes, S. C. Ribeiro, et al. Nonviral Gene Delivery to Mesenchymal Stem Cells Using Cationic Liposomes for Gene and Cell Therapy [J]. *Biomed Biotechnol*, 2010, (2010): 735349.
- [40] Otani K, Yamahara K, Ohnishi S, Obata H, Kitamura S, Nagaya N. Nonviral delivery of siRNA into mesenchymal stem cells by a combination of ultrasound and microbubbles [J]. *Control Release*, 2009, (133): 146-153.
- [41] Kim H, Kim JS. A guide to genome engineering with programmable nucleases [J]. *Nat Rev Genet*, 2014, (15): 321-334.
- [42] Park JS, Suryaprakash S, Lao YH, Leong KW. Engineering mesenchymal stem cells for regenerative medicine and drug delivery [J]. *Methods*, 2015, (84): 3-16.
- [43] Reza Abdi, Robert Moore, Shinobu Sakai, et al. HCELL Expression on Murine MSC Licenses Pancreatotropism and Confers Durable Reversal of Autoimmune Diabetes in NOD Mice [J]. *Stem Cells*, 2015, (33): 1523–1531.
- [44] Sackstein R. The bone marrow is akin to skin: HCELL and the biology of hematopoietic stem cell homing [J]. *J Invest Dermatol Symp Proc*, 2004, (9): 215-223.
- [45] Cheng H, Byrska-Bishop M, Zhang CT, Kastrup CJ, Hwang NS, Tai AK, Lee WW, Xu X, Nahrendorf M, Langer R, Anderson DG. Stem cell membrane engineering for cell rolling using peptide conjugation and tuning of cell-selectin interaction kinetics [J]. *Biomaterials*, 2012, (33): 5004-5012.
- [46] Ji Sun Park, Smruthi Suryaprakash, et al. Engineering Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine and Drug Delivery [J]. *Methods*, 2015, (84): 3–16.
- [47] Ann De Becker and Ivan Van Riet. Homing and migration of mesenchymal stromal cells: How to improve the efficacy of cell therapy? [J]. *World J Stem Cells*, 2016, (3): 73–87.

- [48] M. J. Crop, C. C. Baan, S. S. Korevaar et al. Inflammatory conditions affect gene expression and function of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells [J]. *Clinical and Experimental Immunology*, 2010, (162): 474–486.
- [49] C. Xinaris, M. Morigi, V. Benedetti et al. A novel strategy to enhance mesenchymal stem cell migration capacity and promote tissue repair in an injury specific fashion [J]. *Cell Transplantation*, 2013, (22): 423–436.
- [50] Hogan MV, Bagayoko N, James R et al. Tissue engineering solutions for tendon repair [J]. *Am Acad Orthop Surg*, 2011, (19):134 –142.
- [51] Sasaki T, Fukazawa R, Ogawa S, Kanno S, Nitta T, Ochi M, Shimizu K. Stromal cell-derived factor-1 α improves infarcted heart function through angiogenesis in mice [J]. *Pediatr Int*, 2007, 49(6): 966–71.
- [52] Chen ZY, Yang F, Lin Y, et al. New development and application of ultrasound targeted microbubble destruction in gene therapy and drug delivery [J]. *Curr Gene Therapy*, 2013, (4): 250-274.
- [53] Zhao J, Hang P, Li Y. TRPC6, a potential novel target for enhancing cardiac repair of bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Int J Cardiol*, 2012, (155):497–8.
- [54] Henderson PW, Singh SP, Krijgh DD, et al. Stromal-derived factor-1 delivered via hydrogel drug- delivery vehicle accelerates wound healing in vivo [J]. *Wound Repair Regen*, 2011, (19): 420.
- [55] Shen W, Chen X, Chen J, Yin Z, Heng BC, Chen W, Ouyang W. The effect of incorporation of exogenous stromal cell- derived factor-1 α within a knitted silk-collagen sponge scaffold on tendon regeneration [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(28): 7239–49.
- [56] Ponomaryov T, Peled A, Petit I, Taichman RS, Habler L, Sandbank J, Arenzana-Seisdedos F, Magerus A, Caruz A, Fujii N, Nagler A, Lahav M, Szyper-Kravitz M, Zipori D, Lapidot T. Induction of the chemokine stromal-derived factor-1 following DNA damage improves human stem cell function [J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2000, (106): 1331-1339.